

УДК 619:615.9

DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-3-60-66

Токсикологическая оценка комплексного инсектоакарицидного препарата «Неотерика Протекто 12»

Евгения Николаевна Индюхова¹, Михаил Владимирович Арисов²,
Гульнара Бакитовна Арисова³, Ирина Анатольевна Степанова⁴

¹⁻⁴Всероссийский научно-исследовательский институт фундаментальной и прикладной паразитологии животных и растений – филиал Федерального государственного бюджетного научного учреждения «Федеральный научный центр – Всероссийский научно-исследовательский институт экспериментальной ветеринарии имени К. И. Скрябина и Я. Р. Коваленко Российской академии наук», 117218, г. Москва, ул. Большая Черемушнская, 28, e-mail: director@vniigis.ru

Поступила в редакцию: 12.09.2018; принята в печать: 20.09.2018

Аннотация

Цель исследований: токсикологическая оценка лекарственного препарата для ветеринарного применения «Неотерика Протекто 12» на лабораторных животных.

Материалы и методы. В опыте использовали белых беспородных крыс, мышей и морских свинок. При изучении острой пероральной токсичности для мышей и крыс, острой кожной токсичности, подострой токсичности, раздражающего действия водной суспензии комбинации действующих веществ, алергизирующих свойств ошейника «Неотерика Протекто 12» использовали общепринятые методики.

Результаты и обсуждение. Установлены среднесмертельные дозы ЛД₅₀ при пероральном введении белым мышам (1070 мг/кг) и при пероральном введении белым крысам (3210 мг/кг), что позволило отнести препарат к 3 классу опасности (вещества умеренно опасные). При изучении острой кожной токсичности на белых крысах ЛД₅₀ составила более 10 000 мг/кг, поэтому согласно общепринятой гигиенической классификации препарат относится к 4 классу опасности при кожном нанесении. При изучении подострой токсичности препарата на крысах в течение 6 мес. после нанесения водной суспензии комбинации действующих веществ в дозах 1000, 500 и 200 мг/кг у животных не наблюдали изменений в общем состоянии и поведении. При воздействии водной суспензии комбинации действующих веществ ошейника на кожу крыс признаков раздражающего действия не отмечено, но зафиксировано слабовыраженное действие на слизистую оболочку глаз морских свинок. Установлено, что препарат не обладает алергизирующим и сенсibilизирующим действиями.

Ключевые слова: «Неотерика Протекто 12», ошейник, имидаклоприд, пирипроксифен, этофенпрокс, токсические свойства, мыши, крысы, морские свинки.

Для цитирования: Индюхова Е. Н., Арисов М. В., Арисова Г. Б., Степанова И. А. Токсикологическая оценка комплексного инсектоакарицидного препарата «Неотерика Протекто 12» // Российский паразитологический журнал. 2018. Т. 12. № 3. С. 60–66.

DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-3-60-66

© Индюхова Е. Н., Арисов М. В., Арисова Г. Б., Степанова И. А.

Toxicological Evaluation of the Complex Insectoacaricidal Preparation "Neoterika Protecto 12"

Evgenia N. Indyuhova¹, Mikhail V. Arisov², Gulnara B. Arisova³, Irina A. Stepanova⁴

¹⁻⁴All-Russian Scientific Research Institute of Fundamental and Applied Parasitology of Animals and Plants – a branch of the Federal State Budget Scientific Institution "Federal Scientific Center – All-Russian Scientific Research Institute of Experimental Veterinary Medicine named after K.I. Skryabin and Ya. R. Kovalenko of the Russian Academy of Sciences, 117218, Moscow, 28, Bolshaya Cheremushkinskaya str., e-mail: director@vniigis.ru

Received on: 12.09.2018; accepted for printing on: 21.09.2018

Abstract

The purpose of the research: toxicological evaluation of a medicinal product for veterinary use "Neoterika Protecto 12" on laboratory animals.

Materials and methods. White outbred rats, mice and guinea pigs were used in the experiment. In the study of acute oral toxicity in mice and rats, acute cutaneous toxicity, subacute toxicity, irritant action of an aqueous suspension of a combination of active substances, allergenic properties of the collar «Neoterika Protecto 12» conventional methods were used.

Results and discussion. The median lethal doses LD_{50} for oral supplementation to white mice (1070 mg/kg) and oral supplementation to white rats (3210 mg/kg) were diagnosed, which allowed to designate the preparation to the 3rd hazard class (moderately hazardous substances). In the study of acute cutaneous toxicity on white rats LD_{50} amounted to more than 10 000 mg/kg, therefore, according to the generally accepted hygienic classification, the preparation belongs to the 4th hazard class during cutaneous application. In the study of subacute toxicity of the medication on rats for 6 months after application of the aqueous suspension of the combination of active ingredients in doses of 1000, 500 and 200 mg/kg, no changes in general state and behavior were observed in animals. When an aqueous suspension of a combination of active substances of the collar was applied to the skin of rats, there were no signs of irritant effect, but a mild effect on the mucous membrane of the guinea pig's eyes was recorded. It was found that the preparation does not have allergic and sensitizing effects.

Keywords: «Neoterika Protecto 12», collar, imidacloprid, pyriproxyfen, etofenprox, toxic properties, mice, rats, guinea pigs.

For citation: Indyuhova E. N., Arisov M. V., Arisova G. B., Stepanova I. A. Toxicological Evaluation of the Complex Insectoacaricidal Preparation "Neoterika Protecto 12". *Rossiyskiy parazitologicheskii zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2018; 12(3):60–66.

DOI: 10.31016/1998-8435-2018-12-3-60-66

Введение

Многоплановая оценка токсикологических исследований лекарственных ветеринарных препаратов является необходимым этапом при создании новых инсектоакарицидных средств. Данные исследования устанавливают выраженность повреждающего действия лекарственных средств на организм экспериментальных животных. Полученные результаты позволяют проводить оценку новых комбинаций активных компонентов с точки зрения безопасности их применения.

При изучении токсикологических свойств комплексных противопаразитарных препаратов проведены опыты по определению подострой токсичности [2–4]. В результате изучения влияния повышенных доз препаратов на организм животных было отмечено, что они не оказывают отрицательного влияния на общее состояние крыс, их поведение, морфологические и биохимические показатели крови. Кроме того, было установлено, что исследуемые препараты при однократном нанесении на кожу относятся к малоопасным веществам (4-й класс опасности по ГОСТ 12.1.007) и в рекомендуемых дозах не оказывают местно-раздражающего действия, что подтверждает безопасность данных препаратов.

Одним из самых популярных средств для лечения эктопаразитозов домашних животных являются ошейники – это полимерные изделия различной величины, пропитанные

инсектоакарицидными средствами, равномерно импрегнированными по всей массе ошейника, обладающие длительным сроком защитного действия [5]. Вспомогательные вещества обеспечивают пористость массы полимерной основы для постепенного выхода действующего вещества из основы и его переход на кожно-волосную покров животных. Инсектоакарициды в форме полимерной ленты являются безопасным и удобным средством защиты собак и кошек от эктопаразитов, что отражено в научно-исследовательских работах [1, 6].

Доказана безопасность применения отечественного комплексного инсектоакарицидного препарата на основе фипронила, пирипроксифена и ивермектина в двукратно увеличенной терапевтической дозе на целевых видах животных [1]. При исследовании активности инсектоакарицидного ошейника на основе перметрина было установлено, что его применение не оказывает отрицательного воздействия на организм животных разных возрастных групп; препарат не вызывает местно-раздражающего действия при контакте с кожей в условиях длительного ношения, дерматитов, сухости кожи, ломкости, выпадения шерсти и других побочных явлений [6].

Таким образом, для подтверждения безопасности применения нового комплексного инсектоакарицидного лекарственного препарата в форме полимерной ленты на основе

имидаклоприда, этофенпрокса и пирипроксифена необходимо проведение токсикологических исследований в лабораторных условиях.

Цель работы – токсикологическая оценка лекарственного препарата для ветеринарного применения «Неотерика Протекто 12» на лабораторных животных.

Материалы и методы

Исследования проводили в соответствии с Методическими рекомендациями Фармакологического государственного комитета [7] в 2016–2017 гг. в виварии ФГБНУ «ВНИИП им. К. И. Скрябина». В работе использовали белых беспородных крыс, мышей, морских свинок.

Лекарственный препарат «Неотерика Протекто 12» содержит в качестве действующих веществ имидаклоприд, этофенпрокс и пирипроксифен.

Для определения острой пероральной токсичности препарата на мышах было сформировано 6 групп животных, каждая из которых состояла из 10 беспородных белых мышей-самцов. Предварительно была приготовлена водная суспензия с соответствующим содержанием комбинации действующих веществ, но уменьшенной концентрации в 10 раз для удобства введения. Приготовленную суспензию вводили животным однократно перорально в дозах: первой группе – 250 мг/кг, второй – 500, третьей – 1000, четвертой – 1500, пятой – 2000 мг/кг; шестая группа служила контролем.

Для определения острой пероральной токсичности препарата на крысах было сформировано 6 групп животных, каждая из которых состояла из 10 беспородных белых крыс. Водная суспензия комбинации действующих веществ была приготовлена с добавлением крахмального клейстера в концентрации, соответствующей рецептуре ошейника. Суспензию вводили однократно перорально в дозах: первой группе – 2000 мг/кг, второй – 2500, третьей – 3000, четвертой – 3500, пятой – 4000 мг/кг; шестая группа служила контролем.

Для определения острой токсичности при нанесении на кожу было сформировано 4 группы по 10 беспородных крыс-самцов. За сутки до нанесения препарата ножницами выстригали шерстный покров площадью 6×6 см в области спины животных. Предварительно была приготовлена водная суспензия ком-

бинации действующих веществ с добавлением крахмального клейстера в концентрации, соответствующей рецептуре ошейника. Суспензию наносили на кожу в дозах 0,5 мл (2500 мг/кг), 1,0 мл (5000 мг/кг), 2,0 мл (10 000 мг/кг) однократно. После аппликации препарата крыс рассаживали на 30 мин. в отдельные клетки с целью избегания слизывания препарата; наблюдение за животными вели в течение 14 сут. Регистрировали их общее состояние и поведение, проявление симптомов интоксикации и возможную гибель.

Для исследования подострой токсичности водной суспензии препарата было сформировано 4 группы беспородных белых крыс-самцов по 12 голов в каждой. В связи с тем, что при исследовании острой кожной токсичности не удалось установить LD_{50} , для определения подострой токсичности были взяты следующие дозы: 1/10 (1000 мг/кг), 1/20 (500 мг/кг) и 1/50 (200 мг/кг) от максимально нанесенной дозы в остром кожном эксперименте ($LD_{50} > 10\,000$ мг/кг). Использовали водную суспензию комбинации действующих веществ в концентрации, соответствующей рецептуре ошейника. Суспензию наносили крысам кожно в указанных дозах в течение 6 мес.; животные четвертой группы служили контролем и были обработаны водой.

Раздражающее действие водной суспензии комбинации действующих веществ оценивали в опыте по определению острого токсического действия на кожу крыс. В опыте использовали только животных со здоровой кожей, содержащихся на стандартном рационе и прошедших до начала эксперимента 7-дневный карантин. Определяли толщину кожной складки; первичную оценку реакции кожи проводили сразу после нанесения суспензии, далее через 1, 24, 48 и 72 ч.

Проведены исследования по определению раздражающего действия водной суспензии комбинации действующих веществ ошейника на конъюнктиву глаза морских свинок. Испытания осуществляли на половозрелых морских свинках-альбиносах массой тела 250–300 г. В опыт брали здоровых животных, которых содержали на стандартном рационе. Не позднее 24 ч до начала исследований визуально оценивали состояние глаз каждого животного для выявления выраженных повреждений.

Была сформирована группа животных, состоящая из 5 голов. Одну каплю водной суспензии комбинации действующих веществ ошейника наносили в нижний отдел конъюнктивного мешка левого глаза. Правый глаз служил интактным контролем. Реакцию слизистых оболочек оценивали сразу после закапывания, через 15 мин., 1 ч, 24, 48 и 72 ч. Далее в течение 7 сут наблюдали за состоянием слизистой оболочки глаз и прозрачностью роговицы, изменением кровенаполнения конъюнктивы, наличием лагримаций.

При изучении алергизирующих свойств ошейника проводили эпикутанную сенсibilизацию 40 половозрелым морским свинкам-альбиносам массой тела 250–300 г, для чего надевали ошейник на 20 сут. При таком способе сенсibilизации можно выявить возможность возникновения контактного дерматита, но в процессе сенсibilизации испытуемым препаратом раздражающих действий выявля-

но не было. Через 10 сут после сенсibilизации провели первое тестирование: использовали кожную (эпикутанную), внутрикожную, конъюнктивальную и назальную пробы. Для каждой пробы использовали 10 сенсibilизированных свинок и 10 несенсibilизированных, которые входили в группу контроля.

Результаты и обсуждение

В опыте по изучению острой пероральной токсичности для мышей в первые сутки после введения суспензии комбинации действующих веществ начало гибели мышей отмечали при дозах 500–2000 мг/кг массы тела, в то время как доза 250 мг/кг не вызывала их гибели. Однократное введение суспензии в летальных дозах вызывало общее угнетение, судорожные явления; животные зарывались в подстилку и вскоре погибали. Абсолютно смертельная доза для белых мышей составила 2000 мг/кг массы тела (табл. 1).

Таблица 1

Результаты перорального введения испытуемого препарата белым беспородным мышам

Доза		Наблюдавшийся эффект	% животных, у которых наблюдалась реакция	«Исправленный» процент эффекта
мг/кг	мл/гол			
250	0,05	0/10	0	$\frac{0,25 \times 100}{10} = 2,5$ $\frac{(10-0,25) \times 100}{10} = 97,5$
500	0,1	1/9	10	
1000	0,2	4/6	40	
1500	0,3	8/2	80	
2000	0,4	10/0	100	

С учетом параметров острого токсического действия препарата при пероральном введении белым мышам установлена среднесмертельная доза LD_{50} – 1070 мг/кг и, согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007), препарат относится к 3 классу опасности (вещества умеренно опасные).

При изучении острой пероральной токсичности для крыс в первые сутки после введения суспензии гибели крыс не отмечали. На третьи сутки гибель крыс наблюдали при дозах 3500–4000 мг/кг, в то время как дозы 2000–3000 мг/кг не вызывали гибели крыс. Абсолютно смертельная доза для крыс составила 4000 мг/кг; основной падеж животных в дозе 2500 мг/кг регистрировался на третьи и пятые сутки после введения суспензии. Выжившие животные, которым вводили суспензию в дозах

2000–3500 мг/кг, в течение первых трех суток после введения водной суспензии отказывались от корма и воды. В дальнейшем аппетит нормализовался, признаки интоксикации исчезли. У животных контрольной группы изменений в поведении и состоянии не отмечено.

В табл. 2 приведены результаты опыта после перорального введения водной суспензии комбинации действующих веществ крысам.

С учетом параметров острого токсического действия препарата при пероральном введении белым крысам установлена среднесмертельная доза LD_{50} – 3210 мг/кг и, согласно общепринятой гигиенической классификации (ГОСТ 12.1.007), препарат относится к 3 классу опасности (вещества умеренно опасные).

Параметры острой пероральной токсичности приведены в табл. 3.

Таблица 2

Результаты перорального введения испытуемого препарата крысам

Доза		Наблюдавшийся эффект	% животных, у которых наблюдалась реакция	«Исправленный» процент эффекта
мг/кг	мл/гол			
2000	0,4	0/10	0	$\frac{0,25 \times 100}{10} = 2,5$ $\frac{(10-0,25) \times 100}{10} = 97,5$
2500	0,5	1/9	10	
3000	0,6	3/7	30	
3500	0,7	6/4	60	
4000	0,8	10/0	100	

Таблица 3

Параметры острого токсического действия препарата при пероральном введении белым мышам и крысам

Вид животного	ЛД ₅₀ , мг/кг МТ	ЛД ₁₆ , мг/кг МТ	ЛД ₅₀ , мг/кг МТ	ЛД ₈₄ , мг/кг МТ	ЛД ₁₀₀ , мг/кг МТ
Мыши	250	460	1070	1770	2000
Крысы	2000	2500	3210	3920	4000

При изучении острой кожной токсичности после нанесения комбинации действующих веществ в указанных дозах признаков интоксикации и гибели животных не регистрировали в течение 14 сут наблюдений. Животные адекватно реагировали на нанесение чужеродного вещества. С учетом установленного значения белым крысам ЛД₅₀ > 10 000 мг/кг препарат согласно общепринятой гигиенической классификации относится к 4 классу опасности при кожном нанесении (вещества малоопасные).

При изучении подострой токсичности препарата на крысах по истечении 6 мес. после нанесения водной суспензии в дозах 1000, 500 и 200 мг/кг у животных не наблюдали патологических изменений в общем состоянии и поведении; прием корма, воды, видимые физиологические функции были сопоставимы с началом опыта. Дозы не оказали негативного влияния на общее состояние крыс, их поведение, биохимические показатели крови, не привели к достоверным изменениям морфологических показателей крови крыс после многократного нанесения водной суспензии в течение 6 мес., следовательно, данные дозы являются недействующими.

В группе, где животным применяли дозу 1000 мг/кг, со второго месяца опыта отмечено недостоверное снижение прироста живой массы по сравнению с другими опытными группами и контролем. В группе, где использовали дозу 500 мг/кг, тенденция к снижению массы тела по сравнению с группой контроля отмечалась с 3-го месяца опыта и была в пределах порога достоверности. Изменение массы

тела в группе, где использовали дозу 200 мг/кг, носило положительный характер, и было сопоставимым с контрольными значениями на протяжении всего периода исследований.

При воздействии водной суспензии комбинации действующих веществ ошейника на кожу крыс признаков раздражающего действия не отмечено, участки кожи после аппликации не отличались от контрольных участков кожи, водная суспензия комбинации действующих веществ при экспозиции 4 ч не оказала отрицательного воздействия на кожу крыс.

При нанесении суспензии на слизистые оболочки глаз морских свинок отмечали сужение глазной щели, гиперемию и слезотечение, но эти явления исчезали в течение 24 ч. Состояние слизистой оболочки глаз животных, обработанных водой, было в пределах физиологической нормы. Следовательно, было установлено, что суспензия комбинации действующих веществ препарата обладает слабовыраженным действием на слизистую оболочку глаз морских свинок.

При изучении алергизирующих свойств препарата при проведении эпикутанной пробы в течение 72 ч после нанесения водной суспензии препарата сенсibilизированным и контрольным животным по характеру кожной реакции (отсутствие гиперемии, инфильтрации) обработанные участки не отличались у опытных и контрольных животных. Отрицательная кожная реакция свидетельствует об отсутствии гиперчувствительности немедленного и замедленного типа как у сенсibilизированных, так и у контрольных животных.

После постановки внутрикожной пробы введением водной суспензии комбинации действующих веществ ошейника у сенсibilизированных и контрольных животных на месте инъекции появилось покраснение в виде «пуговки». В течение 12 ч покраснение на месте инъекции рассасывалось и постепенно переходило в бледно-розовый оттенок с мелким шелушением эпидермиса. По истечении 48 ч на коже сенсibilизированных и контрольных животных отклонений не отмечено.

Конъюнктивальная реакция при закапывании водной суспензии комбинации действующих веществ не отличалась как у сенсibilизированных, так и у контрольных животных. В течение 1 ч отмечали покраснение всей конъюнктивы и склеры, в последующем покраснение переходило в легкое покраснение. Через 24 и 48 ч не было отмечено каких-либо изменений слизистой оболочки и склеры глаз ни в одной группе.

При оценке назальной реакции установлено, что при закапывании испытуемой водной суспензии комбинации действующих веществ ошейника наблюдали чихание, усиление секреции слизи и незначительную гиперемию слизистой оболочки в обеих группах. Через 24 и 48 ч никаких отклонений на слизистой оболочке носовой полости отмечено не было. Всасывание веществ, попадающих на слизистые оболочки, происходит быстро и, соответственно, реакции в связи с этим развиваются также быстро, как аллергические, так и раздражающего характера. Отмеченные отклонения в течение 12 ч при постановке конъюнктивальной и назальной проб в обеих группах свидетельствуют о слабовыраженном действии водной суспензии комбинации действующих веществ ошейника на слизистые оболочки.

На основании проведенных исследований следует, что при эпикутанном, внутрикожном, конъюнктивальном и назальном тестировании не отмечено гиперчувствительности немедленного и замедленного типа как у сенсibilизированных, так и контрольных животных. Отклонения, отмеченные в опытной и контрольной группах, при постановке конъюнктивальной и назальной проб, свидетельствуют о слабовыраженном действии исследуемой водной суспензии комбинации действующих веществ ошейника на слизистые

оболочки, которые перестают проявляться в течение 24 ч.

Таким образом, на основании полученных результатов установлено, что препарат не вызывает аллергенной активности организма животных.

Закключение

Установлено, что препарат в форме инсектоакарицидного ошейника «Неотерика Протекто 12» относится к умеренно опасным веществам при введении в желудок белым мышам и крысам (3 класс опасности) и к малоопасным веществам при однократном нанесении на кожу крыс (4 класс опасности) согласно ГОСТ 12.1.007. Препарат не оказывает отрицательного влияния на состояние и физиологический статус крыс в подостром опыте, а также не раздражает кожу крыс, не обладает алергизирующим и сенсibilизирующим действиями.

Литература

1. Арисов М. В., Гламаздин И. Г., Демин А. И., Артемов В. В. Исследование переносимости комплексного противопаразитарного препарата «Инспектор ошейник» // Российский паразитологический журнал. 2016. Т. 38. Вып. 4. С. 543–553.
2. Арисов М. В., Индюхова Е. Н., Кошкарёв Е. А., Арисова Г. Б. Параметры токсичности комплексного инсектоакарицидного препарата «Неотерика Протекто 4» // Ветеринария, зоотехния и биотехнология. 2018. № 2. С. 57–63.
3. Арисов М. В., Степанов В. А., Смирнова Е. С. Фармако-токсикологическая оценка комплексного противопаразитарного препарата для собак и кошек // Российский ветеринарный журнал. Мелкие домашние животные. 2014. № 4. С. 36–39.
4. Арисов М. В., Степанов В. А., Смирнова Е. С. Фармако-токсикологическая оценка новых инсектоакарицидных препаратов РольфКлуб 3D для собак и кошек // Ветеринария. 2014. № 9. С. 31–33.
5. Василевич Ф. И., Есаулова Н. В., Акбаев Р. М. Паразитарные болезни плотоядных животных. Монография. М.: Марс, 2010. С. 135.
6. Панфилов А. В. Использование инсектоакарицидного ошейника для защиты домашних животных // Российский журнал Проблемы ветеринарной санитарии, гигиены и экологии. 2012. № 1. С. 68–74.

7. Руководство по экспериментальному (доклиническому) изучению новых фармакологических веществ / под общей редакцией члена-корреспондента РАМН, профессора Р. У. Хабриева. М.: Медицина, 2005. 832 с.

References

1. Arisov M. V., Glamazdin I. G., Dyomin A. I., Artemov V. V. Tolerability research of complex antiparasitic preparation «Inspector collar». *Rossiyskiy parazitologicheskiy zhurnal = Russian Journal of Parasitology*. 2016; 38(4):543–553. (In Russ.)
2. Arisov M. V., Induyhova E. N., Koshkarev E. A., Arisova G. B. Parameters of toxicity of the complex insectoacaricidal preparation "Neoterika Protecto 4". *Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya = Veterinariya, zootekhnika i biotekhnologiya*. 2018; 2: 57–63. (In Russ.)
3. Arisov M. V., Stepanov V. A., Smirnova E. S. Pharmacological and Toxicological Assessment of a Complex Antiparasitic Preparation for Dogs and Cats. *Rossiyskiy veterinarnyy zhurnal. Melkiye domashniye zhivotnyye = Russian Veterinary Journal. Small pets*. 2014; 4:36–39. (In Russ.)
4. Arisov M. V., Stepanov V. A., Smirnova E. S. Pharmacological and Toxicological Assessment of new Insectoacaricidal Preparations RolfClub 3D for Dogs and Cats. *Veterinariya = Veterinary Medicine*. 2014; 9:31–33. (In Russ.)
5. Vasilevich F. I., Esaulova N. V., Akbaev R. M. Parasitic diseases of carnivorous animals. Monograph. M.: Mars, 2010; 135 p. (In Russ.)
6. Panfilov A. V. Use of an insecticidal collar for the protection of domestic animals. *Rossiyskiy zhurnal Problemy veterinarnoy sanitarii, gigieny i ekologii = Russian Journal of Problems of Veterinary Sanitation, Hygiene and Ecology*. 2012; 1:68–74. (In Russ.)
7. Manual on experimental (preclinical) study of new pharmacological substances / Under the general editorship of Corresponding Member of RAMS, Professor R. U. Khabriev. M.: Medicine, 2005; 832 p. (In Russ.)